

<p>(51) Clasificación Internacional de Patentes ⁶ : C07J 71/00, A01N 45/00</p>	<p>A1</p>	<p>(11) Número de publicación internacional: WO 97/13780</p> <p>(43) Fecha de publicación internacional: 17 de Abril de 1997 (17.04.97)</p>
<p>(21) Solicitud internacional: PCT/CU96/00002</p> <p>(22) Fecha de la presentación internacional: 11 de Octubre de 1996 (11.10.96)</p> <p>(30) Datos relativos a la prioridad: 92/95 12 de Octubre de 1995 CU (12.10.95)</p> <p>(71)(72) Solicitantes e inventores: COLL MANCHADO, Francisco [CU/CU]; Calle 112 No. 515, Playa, Ciudad Habana 11400 (CU). JOMARRON RODILES, Isabel María [CU/CU]; Edificio 64 Apartamento 12 Zona 9, Alamar, Ciudad Habana 11700 (CU). ROBAINA RODRIGUEZ, Caridad Marcelina [CU/CU]; Perla entre 100 y Finca, Altahabana, Ciudad Habana 10400 (CU). ALONSO BECERRA, Esther María [CU/CU]; Calle F No. 558 entre 23 y 25, Plaza, Ciudad Habana 10400 (CU). CABRERA PEDROSO, María Teresa [CU/CU]; Avenida 17 No. 3621 Apartamento 3, Playa, Ciudad Habana 11300 (CU).</p> <p>(74) Representante común: CABRERA PEDROSO, María Teresa; Facultad de Química, Zanja entre G y Mazón, Plaza, Ciudad Habana 10400 (CU).</p>	<p>(81) Estados designados: BR, MX, Patente europea (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).</p> <p>Publicada <i>Con informe de búsqueda internacional.</i></p>	

(54) Title: POLYHYDROXYSPIROSTANNONES AS PLANT GROWTH REGULATORS

(54) Título: POLIHIDROXIESPIROSTANONAS COMO REGULADORES DEL CRECIMIENTO VEGETAL

(57) Abstract

The present invention relates to the biochemistry field, and in particular to the production of new spirostannic analogs of brasinoesteroids with oxygenated functions at different positions of the ring A from steroidal sapogenines, through dihydroxylation reactions of a Δ^2 -steroid, as main reaction. The invention relates to the production of spirobrasino-steroids 6-oxo with oxygenated functions in positions 2 and 3 or 3 and 5, and having the general formula (2). These synthesized compounds have a regulating activity in plant growth, when applied in very low concentrations, with promising prospect in agriculture.

(57) Resumen

La presente invención se relaciona con la rama químico biológica, y en particular con la obtención de nuevos análogos espiroestánicos de brasinoesteroides con funciones oxigenadas en diferentes posiciones del anillo A a partir de sapogeninas esteroideas, mediante la realización de reacciones de dihidroxilación a un Δ^2 -esteroide, como reacción principal. Se describe la obtención de espirobrasino-esteroides 6-oxo con funciones oxigenadas en las posiciones 2 y 3 ó 3 y 5, con la fórmula general (2). Estos compuestos sintetizados presentan actividad reguladora del crecimiento vegetal en muy bajas concentraciones, con amplias perspectivas para su uso en la Agricultura.

COMPOUNDO Compuesto	R ₁	R ₂	R ₃
2a	CH ₃ COO β	CH ₃ COO β	H α
2b	HO β	CH ₃ COO β	H α
2c	CH ₃ COO β	HO β	H α
2d	HO β	HO β	H α
2e	HO β	HO β	H β
2f	CH ₃ COO β	CH ₃ COO β	H β
2g	CH ₃ COO β	CH ₃ COO α	H α
2h	CH ₃ COO β	HO α	H α
2i	HO β	HO α	H α
2j	HO β	HO α	H β
2k	CH ₃ COO β	CH ₃ COO α	H β
2l	CH ₃ COO α	CH ₃ COO β	H α

COMPOUNDO Compuesto	R ₁	R ₂	R ₃
2m	HO α	HO β	H α
2n	HO α	HO α	H α
2o	CH ₃ COO α	CH ₃ COO α	H α
2p	H	CH ₃ COO β	HO α
2q	H	HO β	HO α
2r	H	HO β	HO β
2s	HO α	HO α	HO α
2t	CH ₃ COO α	CH ₃ COO α	HO α

UNICAMENTE PARA INFORMACION

Códigos utilizados para identificar a los Estados parte en el PCT en las páginas de portada de los folletos en los cuales se publican las solicitudes internacionales en el marco del PCT.

AM	Armenia	GB	Reino Unido	MW	Malawi
AT	Austria	GE	Georgia	MX	México
AU	Australia	GN	Guinea	NE	Níger
BB	Barbados	GR	Grecia	NL	Países Bajos
BE	Bélgica	HU	Hungria	NO	Noruega
BF	Burkina Faso	IE	Irlanda	NZ	Nueva Zelandia
BG	Bulgaria	IT	Italia	PL	Polonia
BJ	Benín	JP	Japón	PT	Portugal
BR	Brasil	KE	Kenya	RO	Rumania
BY	Belarus	KG	Kirguistán	RU	Federación Rusa
CA	Canadá	KP	República Popular Democrática de Corea	SD	Sudán
CF	República Centroafricana	KR	República de Corea	SE	Suecia
CG	Congo	KZ	Kazajistán	SG	Singapur
CH	Suiza	LI	Liechtenstein	SI	Eslovenia
CI	Côte d'Ivoire	LK	Sri Lanka	SK	Eslovaquia
CM	Camerún	LR	Liberia	SN	Senegal
CN	China	LT	Lituania	SZ	Swazilandia
CS	Checoslovaquia	LU	Luxemburgo	TD	Chad
CZ	República Checa	LV	Letonia	TG	Togo
DE	Alemania	MC	Mónaco	TJ	Tayikistán
DK	Dinamarca	MD	República de Moldova	TT	Trinidad y Tabago
EE	Estonia	MG	Madagascar	UA	Ucrania
ES	España	ML	Mali	UG	Uganda
FI	Finlandia	MN	Mongolia	US	Estados Unidos de América
FR	Francia	MR	Mauritania	UZ	Uzbekistán
GA	Gabón			VN	Viet Nam

POLIHIDROXIESPIROSTANONAS COMO REGULADORAS DEL CRECIMIENTO VEGETAL

5 La presente invención se relaciona con la rama químico-biológica y en particular con un procedimiento para la obtención de nuevos análogos espirostánicos de brasinoesteroides a partir de sapogeninas esteroidales, mediante síntesis parcial, los cuales presentan actividad reguladora del crecimiento vegetal.

10 Los brasinoesteroides son compuestos esteroidales, con actividad reguladora de crecimiento vegetal que se encuentran en las plantas en muy pequeñas cantidades, por ello su obtención por métodos extractivos a partir de éstas resulta económicamente prohibitivo. Algunos de los compuestos naturales han sido obtenidos sintéticamente pero con rendimientos muy bajos, por ello la tendencia
15 actual es sintetizar análogos de estos compuestos.

La mayoría de ellos poseen (entre otras características estructurales típicas), un sistema $2\alpha,3\alpha$ - diol en el anillo A y una unión trans de los anillos A y B, del sistema esteroideal, atribuyéndole muchos científicos a esta peculiaridad una importancia
20 primordial en la actividad biológica que ellos pueden desempeñar.

Por ello, algunos de los análogos de brasinoesteroides sintetizados presentan los sustituyentes en las posiciones 2 y 3 del anillo A con estereoquímica α , los cuales muestran actividad como reguladores del crecimiento vegetal, (Kohout, L., Strnad, M., Collect. Czech. Chem. Commun. **57**, 1731, 1992; Cerny, V., et al Collect. Czech.
25 Chem. Commun. **51**, 687, 1986.)

Sin embargo, en los últimos años, se han aislado algunos brasinoesteroides naturales, biológicamente activos, que presentan un sistema 2,3-diol, pero con estereoquímica diferente (Kj Kim, S. "A.C.S. Symposium Series 474", Am. Chem.
30 Soc., USA., 26, 1991), como por ejemplo: la 2-epicastasterona ($2\beta,3\alpha$ -diol); la 3-epicastasterona ($2\alpha,3\beta$ -diol) y la 2,3-diepicastasterona ($2\beta,3\beta$ -diol). Por otra parte se han preparado análogos de brasinoesteroides con estereoquímica $2\beta,3\beta$ que son más activos que los análogos con estereoquímica $2\alpha,3\alpha$, así como análogos con el

H-5 β que son más activos que los que poseen el H-5 α (Kohout et al "A.C.S. Symposium Series 474", Am. Chem. Soc., USA., Cap.6, 1991).

5 Por otra parte, resulta interesante estudiar como influyen las variaciones en las posiciones de estos grupos hidroxílicos en el anillo A sobre la actividad biológica que estos compuestos ejercen.

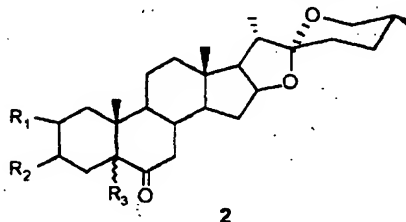
En la década del 80 fue publicado (Schwartz, R. et al, Revue Roumanie de Chimie, 29, 9-10, 755-759, 1984) la síntesis del (25R)-3 β -acetoxi-5 α -hidroxi-
10 espirostan-6-ona como compuesto intermediario para la síntesis del 3 β -acetoxi-B-nor-5-androsten-17-ona y 3 β -acetoxi-B-nor-5-pregnen-20-ona, reportándose para su obtención la utilización de reacciones de acetilación con anhídrido acético y piridina, para obtener la diosgenina acetilada. Luego se realiza una epoxidación del doble
15 enlace con acetato de sodio, cloroformo y ácido peracético al 14.5%, obteniéndose el epóxido correspondiente y posteriormente se oxida utilizando acetona y anhídrido crómico disuelto en agua.

La presente invención tuvo como objetivo inicial obtener a la (25R)-3 β ,5 α -dihidroxi-espirostan-6-ona, por lo que para ello se repitió la utilización del método
20 anteriormente descrito hasta obtener el (25R)-3 β -acetoxi-5 α -hidroxi-espirostan-6-ona que constituiría el precursor del compuesto diol objeto de síntesis, notándose que en la oxidación del epóxido en las condiciones descritas, la reacción transcurre con dificultad y bajos rendimientos para producir el cetol correspondiente.

25 Además dicho proceso requiere de la acetilación de diosgenina con anhídrido acético y piridina a temperatura ambiente durante 24 horas, lo cual además del tiempo empleado conlleva a la utilización de la piridina reactivo que es tóxico.

Teniendo en cuenta lo anteriormente planteado se decidió buscar un
30 procedimiento para la síntesis de espirostanonas con funciones oxigenadas en distintas posiciones del anillo A con diferente estereoquímica de estos grupos sustituyentes, que tienen actividad como regulador de crecimiento vegetal, empleándose en su preparación procedimientos de síntesis asequibles y con

buenos rendimientos. Aquí se describe la obtención de nuevos espirobrasinoesteroides con la siguiente fórmula general:



Compuesto	R ₁	R ₂	R ₃
2a	CH ₃ COO β	CH ₃ COO β	H α
2b	HO β	CH ₃ COO β	H α
2c	CH ₃ COO β	HO β	H α
2d	HO β	HO β	H α
2e	HO β	HO β	H β
2f	CH ₃ COO β	CH ₃ COO β	H β
2g	CH ₃ COO β	CH ₃ COO α	H α
2h	CH ₃ COO β	HO α	H α
2i	HO β	HO α	H α
2j	HO β	HO α	H β
2k	CH ₃ COO β	CH ₃ COO α	H β
2l	CH ₃ COO α	CH ₃ COO β	H α
2m	HO α	HO β	H α
2n	HO α	HO α	H α
2ñ	CH ₃ COO α	CH ₃ COO α	H α
2o	H	CH ₃ COO β	HO α
2p	H	HO β	HO α
2q	H	HO β	HO β
2r	HO α	HO α	HO α
2s	CH ₃ COO α	CH ₃ COO α	HO α

Los compuestos con estas fórmulas generales presentan actividad reguladora del crecimiento vegetal.

Al compuesto (25R)-5 α -2-espirosten-6-ona (1) se le realizó una cis-hidroxilación β según el método reportado por Woodward (J.A.C.S., 80, 209, 1958), utilizando entre (10-15) partes en volumen de ácido acético seguido de acetato de plata, yodo y solución acuosa de ácido acético en proporciones molares de (2-2,5), (1-1,2), y (0,14-0,16) obteniéndose los productos 2a, 2b y 2c.

También la reacción se puede llevar a cabo cambiando el acetato de plata por una cantidad equivalente de acetato de cobre (Mangoni, L. et al. Tetrahedron Letters, 1973; Horiuchi, Aakira C. J. Yasho Chemistry Letters, 1988).

La saponificación de 2a, 2b y 2c, con carbonato de potasio o hidróxido de potasio (en proporción molar de 1,8-2,2) en un solvente adecuado producen 2d y 2e. Al compuesto 2e se le realiza una reacción de acetilación y se forma 2f.

Al compuesto (25R)-5 α -2-espirosten-6-ona (1) se le realiza una reacción de epoxidación según el método reportado por (Schwartz, N.M. et al, J.O.C., 29, 1979, 1964), utilizando entre (8-12) partes en volumen del solvente adecuado y el agente epoxidante en proporción molar de (2-2.5), al epóxido sintetizado se abre empleando entre (18-22) partes en volumen de ácido acético, obteniéndose los compuesto 2g y 2h.

La saponificación de una mezcla de los compuestos 2g y 2h con carbonato de potasio o hidróxido de potasio en proporción molar de (1.8-1.2) en solvente adecuado, produce los compuestos 2i y 2j. El compuesto 2k se obtiene mediante una acetilación del compuesto 2j.

El compuesto 2l es obtenido por una oxidación directa del doble enlace del diacetato de yucagenina, utilizando (6-7) partes en volumen de tetrahydrofurano y solución de borano en 1,4-oxatiano en proporción molar de (2-2.5), seguido de disolución de NaOH 2 N, utilizando (1.5-2.5) partes en volumen y (6.5-7) partes en

volumen de H_2O_2 y seguidamente se le realiza una oxidación con (3-5) partes en volumen del reactivo de Jones .

El compuesto **2l** se saponifica de manera similar a los compuestos **2g** y **2h**,
5 obteniéndose el compuesto **2m**.

Al compuesto (25R)-5 α -2-espirosten-6-ona (**1**) se le realiza una cis hidroxilación α siguiendo el método reportado por Ishiguro et al. (Chem. Commun., 20, 962, 1980) utilizando tetrahidrofurano y agua entre (10-30) y (1-5) partes en volumen
10 respectivamente seguido de tetróxido de osmio y N-óxido de N-metilmorfolina en proporciones molares de (0.056-0.168) y (2.8-7) obteniéndose el producto **2n**. El compuesto **2n** se esterifica de forma similar a la realizada con el producto **2e** obteniéndose el compuesto **2ñ**.

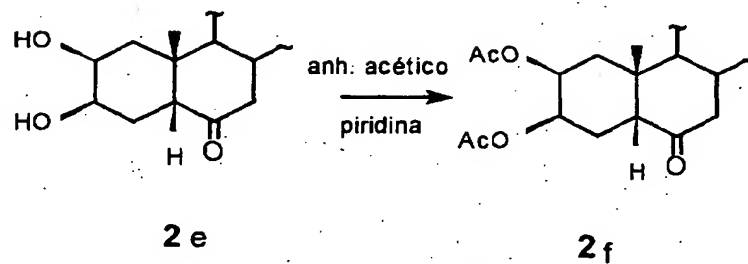
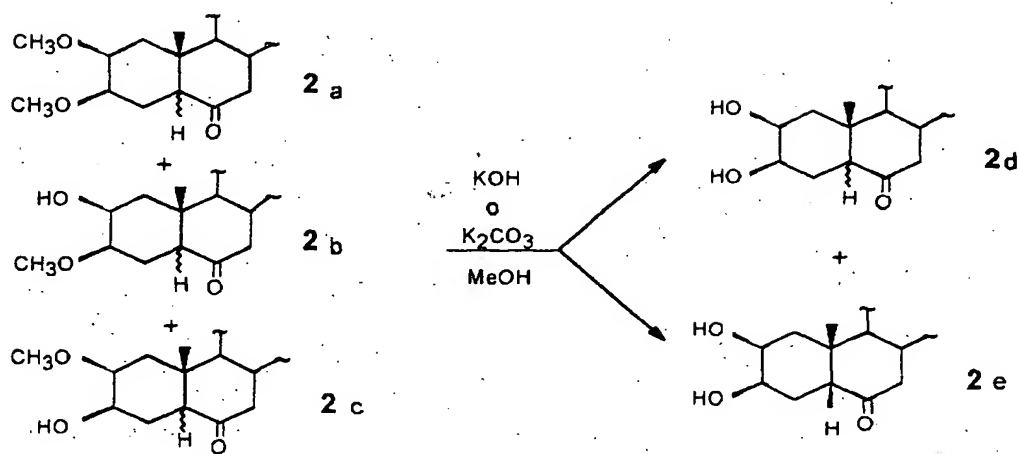
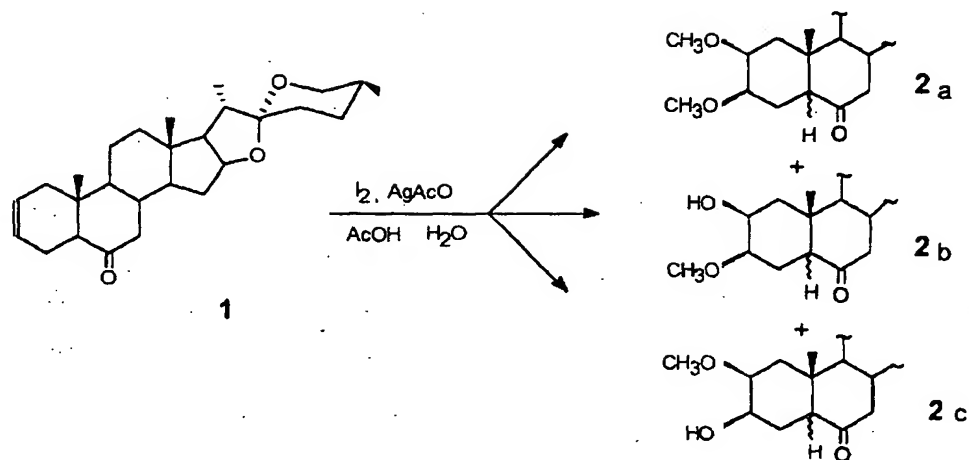
15 El compuesto **2o** se obtiene por oxidación directa del acetato de diosgenina utilizando entre (20-40), (1-3) y (0.5-1) partes en volumen de acetona, anhídrido acético y peróxido de hidrógeno al 35% respectivamente y acetato de sodio en proporción molar de (1-2) y seguidamente se realiza otra oxidación con (1-3) partes en volumen del reactivo de Jones .

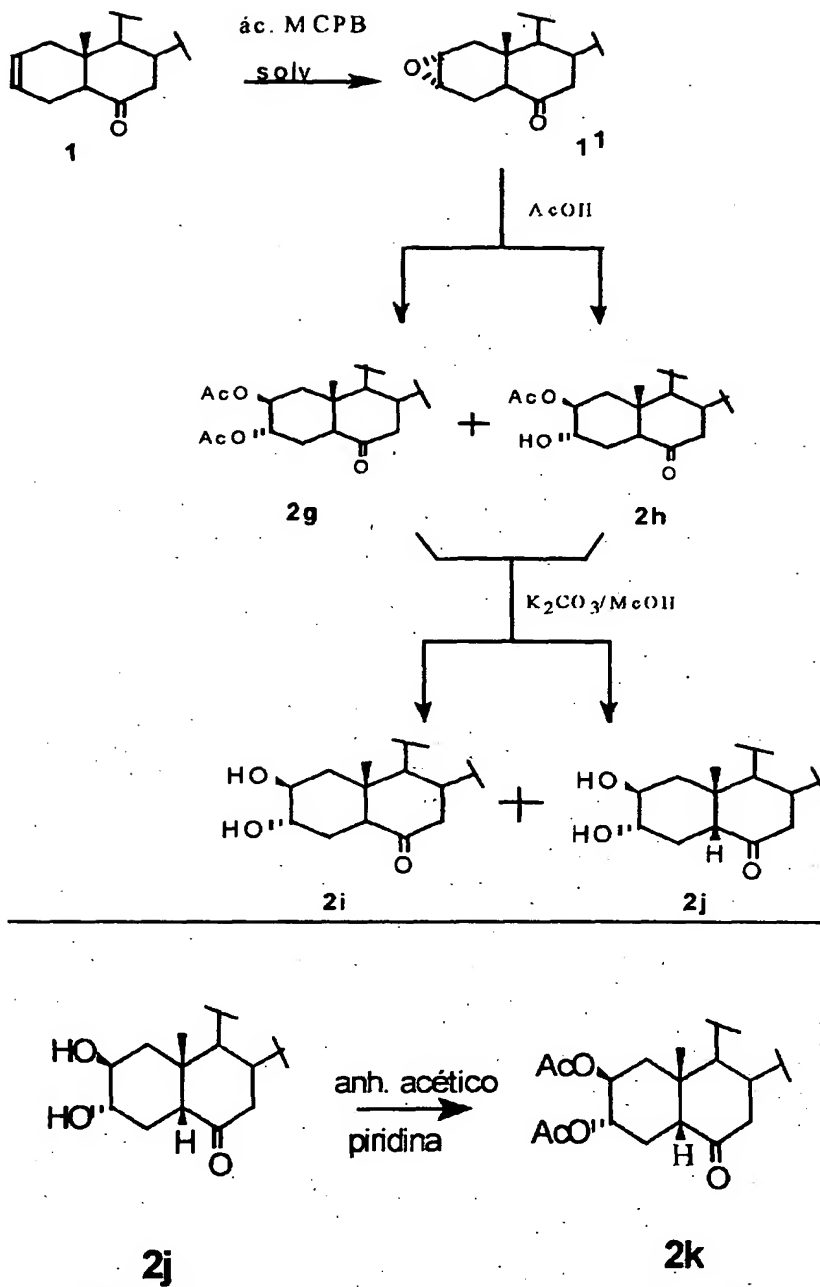
20 La saponificación de **2o** utilizando (10-20) parte en volumen de disolución de hidróxido de potasio en etanol al 5% produce los compuestos **2p** y **2q**.

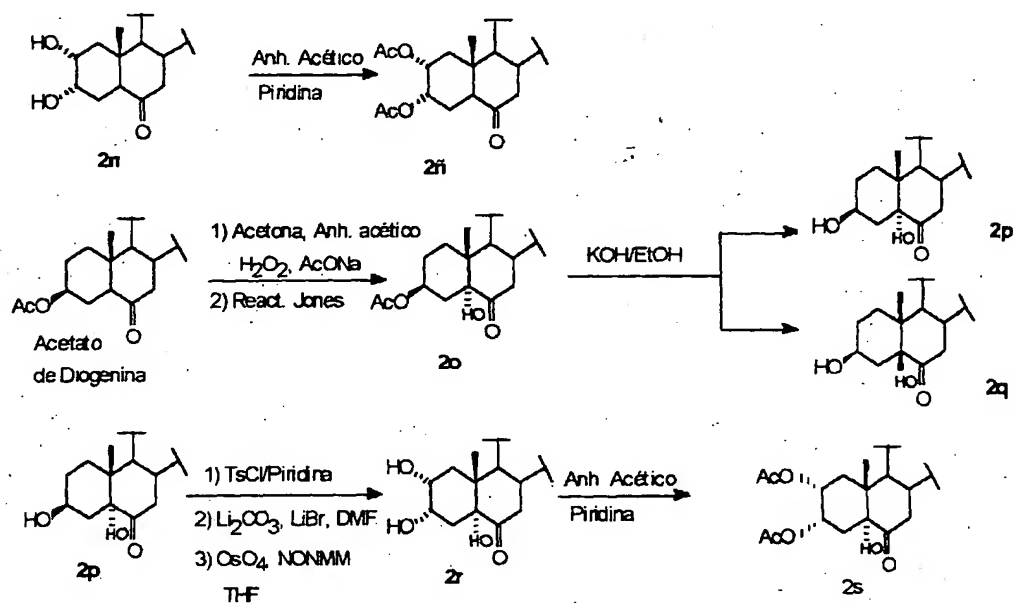
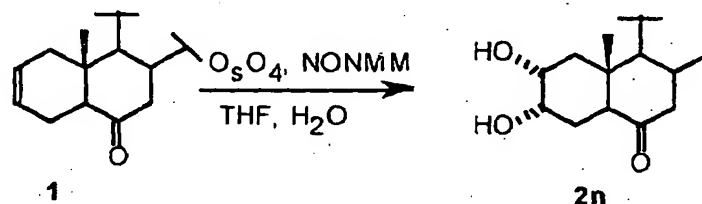
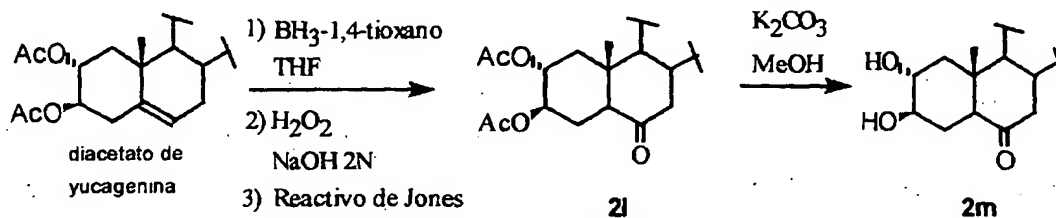
El compuesto **2p** se trata con cloruro de tosilo en proporción molar de (1-3) y (2-
25 5) partes en volumen de piridina seguido de la deshidrotosilación empleando una sal de litio en proporción molar entre (9-15) y (8-15) respectivamente y (1-4) parte en volumen de dimetilformamida. La oxidación del doble enlace se realiza de manera similar al compuesto **2n** obteniéndose el compuesto **2r**.

30 El compuesto **2r** se acetila de forma convencional obteniéndose el compuesto **2s**.

El esquema sintético seguido para la obtención de los productos fue:







Mediante la presente invención ha sido posible la obtención de veinte nuevos espirobrasinoesteroides con funciones oxigenadas en distintas posiciones del anillo A con diferente estereoquímica, los cuales mostraron actividad como reguladores del crecimiento vegetal.

El proceso sintético empleado utiliza reactivos químicos comunes y la mayoría de baja toxicidad.

Los compuestos sintetizados permiten incrementar el crecimiento y desarrollo de las plantas, así como sus rendimientos agrícolas. Además se utilizan como aditivo en la conservación postcosecha de las flores

Ejemplos de realización.

10 Ejemplo 1

Seis gramos (14.5 mmol) del (25R)-5 α -2-espirosten-6-ona **1**, se disuelven en 67 mL de ácido acético glacial. A continuación se añaden 5.46 g (32.7 mmol) de acetato de plata. A esta mezcla se le adicionan 3.87 g (15.2 mmol) de yodo.

15 Posteriormente se añaden 2.18 mL de la solución acuosa de ácido acético y la mezcla de reacción se calienta.

Al concluir la reacción se añade cloruro de sodio y se filtran las sales insolubles. El filtrado se vierte sobre agua con agitación, se filtra a presión reducida y el sólido se disuelve en acetato de etilo.

A continuación se seca, se filtra y el solvente se evapora.

Rendimiento del crudo 6.63 g.

25 El crudo se purificó por cromatografía de columna. A continuación se mencionan en orden decreciente de R_f:

-(25R)-2 β , 3 β -diacetoxi-5 α -espirostan-6-ona (**2a**).

Rendimiento : 0.79 g (1.49 mmol, 10.2 %).

30 Temperatura de fusión : 198-199 °C.

-(25R)-2 β -hidroxi-3 β -acetoxi-5 α -espirostan-6-ona (**2b**).

Rendimiento : 0.784 g (1.61 mmol, 11.03 %).

Temperatura de fusión : 204-205 °C.

-(25R)-2 β -acetoxi-3 β -hidroxi-5 α -espirostan-6-ona (**2c**).

Rendimiento : 1.124 g (2.30 mmol, 15.83 %).

Temperatura de fusión : 209-210 °C.

5

También se obtuvieron 2.7 g de una mezcla impura de los dos compuestos más polares.

Ejemplo 2.

10

Síntesis de la (25R)-2 β , 3 β -dihidroxi-5 α -espirostan-6-ona (**2d**).

Un gramo de la mezcla de los compuestos 2a, 2b y 2c se disuelve en 78 mL de metanol, se le añaden 0.49 g de carbonato de potasio, reflujiéndose. Concluida la
15 reacción esta se trabaja de manera usual.

Rendimiento del crudo : 700 mg.

El crudo se purificó por cromatografía de columna. Obteniéndose dos productos,
20 siendo éste el menos polar.

Rendimiento: 0.5 g (1,12 mmol, 62.5 %).

Temperatura de fusión: 224-225 °C

Ejemplo 3.

25

Síntesis de la (25R)-2 β ,3 β -dihidroxi-5 β -espirostan- 6-ona (**2e**).

Se aísla como producto más polar de la columna referida en el ejemplo de realización 2.

Rendimiento: 0.1 g (0.18 mmol, 11.8%).

30

Temperatura de fusión: 193 -195 °C.

Los compuestos referidos en la presente invención pueden ser utilizados como principios activos de una formulación que presenta propiedades como regulador del crecimiento vegetal y como aditivo para la conservación postcosecha de flores.

Como reguladores del crecimiento de las plantas los compuestos de la presente invención pueden prepararse como formulación líquida o en una solución acuosa, mezclando el ingrediente activo con uno o varios tipos de agentes líquidos entre ellos solventes orgánicos convencionales tales como alcohol etílico (500-1000 mL) y dimetilformamida (20-60g), entre otros. Aplicándose como sólido, como formulación líquida, etc, mezclado con los fertilizantes, pesticidas herbicidas, etc.

En la preparación de la formulación puede adicionarse un agente de superficie activo como por ejemplo, Tween-20 (0.05-0.1%) para mejorar su dispersabilidad al preparar a partir de una formulación líquida concentrada una solución acuosa para su aplicación a la planta. Esta formulación resulta estable a temperaturas menores de 35° C por períodos hasta un año.

Los compuestos referidos en la presente invención pueden aplicarse en concentraciones de 10^{-4} a 10 ppm y en dosis dentro del rango de 0,1 a 1000 mg/Ha, dependiendo del cultivo, el estado vegetativo de la planta y las condiciones edafoclimáticas, entre otros.

A los productos sintetizados se les determinó su propiedad de reguladores del crecimiento vegetal mediante los bioensayos de:

1. Crecimiento del hipocotilo y expansión de los cotiledones del rábano.
2. Retención de la degradación de los pigmentos fotosintéticos en hojas de trigo.

En el primer bioensayo se emplearon soluciones con una concentración del principio activo entre 0.01-10 ppm, obteniéndose un incremento de la longitud del hipocotilo entre $1,1 \pm 0.22$ cm, así como un incremento en el peso de los cotiledones.

Además fue corroborada la bioactividad de los mismos mediante pruebas en campo hasta 1 Ha con diferentes cultivos, como por ejemplo:

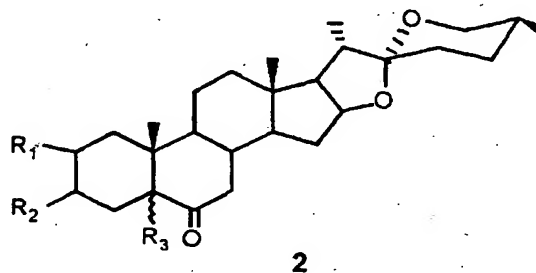
CULTIVO	CONCENTRACION	INCREMENTO DEL REND.
Cebolla	0.1-1 ppm	21-40 %
Aji	0.5-1 ppm	8-50 %
Ajo	0.1-0.5 ppm	2-15 %
Papa	0.1-10 ppm	18-25 %
Maíz	0.1-0.5 ppm	10-47%
Soya	0.1-1 ppm	9-34%
Sorgo	0.1-1 ppm	Aproxim. 15%
Arroz	0.1-1 ppm	12%
Tomate	0.1-1 ppm	6-11%

5. ***Ventajas de la solución técnica propuesta:***

- Se ha logrado la obtención de veinte nuevos espirobrasinoesteroides con funciones oxigenadas en distintas posiciones del anillo A con diferente estereoquímica que presentaron actividad como reguladores del crecimiento vegetal.
- El proceso sintético empleado utiliza reactivos químicos comunes y la mayoría de baja toxicidad.
- Los compuestos sintetizados permiten incrementar el crecimiento y desarrollo de las plantas, así como sus rendimientos agrícolas. Además se utilizan como aditivo en la conservación postcosecha de las flores

REIVINDICACIONES

1. Espirostanonas con funciones oxigenadas en el anillo A, como reguladores del crecimiento y su procedimiento de obtención, caracterizadas por la fórmula general (2):



donde:

Compuesto	R ₁	R ₂	R ₃
2a	CH ₃ COO β	CH ₃ COO β	H α
2 b	HO β	CH ₃ COO β	H α
2 c	CH ₃ COO β	HO β	H α
2 d	HO β	HO β	H α
2 e	HO β	HO β	H β
2 f	CH ₃ COO β	CH ₃ COO β	H β
2g	CH ₃ COO β	CH ₃ COO α	H α
2h	CH ₃ COO β	HO α	H α
2i	HO β	HO α	H α
2j	HO β	HO α	H β
2k	CH ₃ COO β	CH ₃ COO α	H β
2l	CH ₃ COO α	CH ₃ COO β	H α
2m	HO α	HO β	H α
2n	HO α	HO α	H α
2ñ	CH ₃ COO α	CH ₃ COO α	H α

Compuesto	R ₁	R ₂	R ₃
2o	H	CH ₃ COO β	HO α
2p	H	HO β	HO α
2q	H	HO β	HO β
2r	HO α	HO α	HO α
2r	CH ₃ COO α	CH ₃ COO α	HO α

2. Procedimiento para la síntesis de derivados de espirobrasinoesteroides según la reivindicación No. 1 caracterizado porque dichos compuestos se obtienen a partir de sapogeninas esteroidales mediante las siguientes reacciones químicas:

- 5 a- Reacción de cis-hidroxilación β al compuesto (25R)-5α-2-espirosten-6-ona (1), utilizando entre (10 -15) partes en volumen de ácido acético seguido de acetato de plata, yodo y solución acuosa de ácido acético en proporciones molares de (2 - 2,5) , (1 - 1,2), y (0,14 - 0,16), obteniéndose los productos 2a, 2b y 2c.
- 10 b- La saponificación de 2a, 2b y 2c, con carbonato de potasio o hidróxido de potasio (en proporción molar de 1,8-2,2) en metanol producen 2d y 2e. Al compuesto 2e se le realiza una reacción de acetilación y se forma 2f.
- 15 c- Reacción de epoxidación del compuesto (25R)-5α-2-espirosten-6-ona (1) utilizando entre (8-12) partes en volumen de cloroformo y ácido MCPB en proporción molar de (2-2.5), el epóxido sintetizado se abre empleando entre (18-22) partes en volumen de ácido acético, obteniéndose los compuesto 2g y 2h.
- 20 d- La saponificación de una mezcla de los compuestos 2g y 2h con carbonato de potasio o hidróxido de potasio en proporción molar de (1.8-1.2) en metanol, produce los compuestos 2i y 2j. El compuesto 2k se obtiene mediante una acetilación del compuesto 2j, empleando anh. acético y piridina a partes iguales.
- 25 e- El compuesto 2l se obtiene por una oxidación directa del doble enlace del diacetato de yucagenina, utilizando (6-7) partes en volumen de tetrahydrofurano y

solución de borano en 1,4-oxatiano en proporción molar de (2-2.5), seguido de disolución de NaOH 2 N, utilizando (1.5-2.5) partes en volumen y (6.5-7) partes en volumen de H₂O₂ y seguidamente se le realiza una oxidación con (3-5) partes en volumen del reactivo de Jones.

5

f- El compuesto **2l** se saponifica de manera similar a los compuestos **2g** y **2h**, obteniéndose el compuesto **2m**.

10

g- Reacción de cis hidroxilación α al compuesto al (25R)-5 α -2-espirosten-6-ona (**1**), utilizando tetrahidrofurano y H₂O entre (10-30) y (1-5) partes en volumen respectivamente seguido de la adición de tetróxido de osmio y N-óxido de N-metil morfolina en proporciones molares (0.056-0.168) y (2.8-7) obteniéndose el producto **2n**. El compuesto **2n** se esterifica de forma similar a la realizada con el producto **2e** obteniéndose el compuesto **2ñ**.

15

h- El compuesto **2o** se obtiene por oxidación directa del acetato de diosgenina utilizando entre (20-40), (1-3) y (0.5-1) partes en volumen de acetona, anhídrido acético y peróxido de hidrógeno al 35% respectivamente y acetato de sodio en proporción molar de (1-2) y seguidamente se realiza otra oxidación con (1-3) partes en volumen del reactivo de Jones.

20

i- La saponificación de **2o** utilizando (10-20) parte en volumen de disolución de hidróxido de potasio en etanol al 5% produce los compuestos **2p** y **2q**.

25

j- Reacción de tosilación al compuesto **2p** con cloruro de tosilo en proporción molar de (1-3) y (2-5) partes en volumen de piridina seguido de la deshidrotosilación empleando una sal de litio en proporción molar entre (9-15) y (8-15) respectivamente y (1-4) parte en volumen de dimetilformamida. La oxidación del doble enlace se realiza de manera similar al compuesto **2n** obteniéndose el compuesto **2r**.

30

k- Reacción de acetilación del compuesto **2r** de manera similar a lo planteado en el apartado a) de la reivindicación Número 2 para dar lugar al producto **2s**.

3. Espirostanonas obtenidas según las reivindicaciones 1 y 2 caracterizadas porque son utilizadas como reguladores del crecimiento vegetal.
4. Análogos espirostánicos de brasinoesteroides según las reivindicaciones de la 1 a la 3 caracterizados porque son utilizados como reguladores del crecimiento vegetal y como preservantes en flores.
5. Formulación que contiene las espirostanonas o los análogos espirostánicos de brasinoesteroides de las reivindicaciones de la 1 a la 4 caracterizada por ser una formulación acuosa que contiene entre 10^{-4} - 100 ppm del principio activo y que puede ser aplicada sola o mezclada con herbicidas, pesticidas, fertilizantes, etc, que sean solubles en agua.
6. Uso de las espirostanonas o los análogos espirostánicos de brasinoesteroides de las reivindicaciones de anteriores como reguladores del crecimiento vegetal y como preservante en flores

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☒ FADED TEXT OR DRAWING
- ☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☒ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.